

A2

证 明

REC'D 17 DEC 2003

WIPO

PCT

本证明之附件是向本局提交的下列专利申请副本

申 请 日： 2002.10.31

申 请 号： 02 1 45975.4

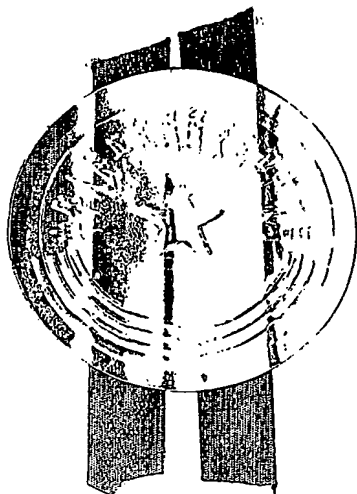
申 请 类 别： 发明

发明创造名称： 含生物活性物质的兔皮和其用途

申 请 人： 威世药业（如皋）有限公司

发明人或设计人：张永深

**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



中华人民共和国
国家知识产权局局长

王荣川

2003 年 11 月 26 日

权 利 要 求 书

1. 一种含生物活性物质的兔皮，其特征在于该兔皮是由以下方法制备的：用牛痘病毒株接种家兔，将接种过的家兔进行饲养，待其皮肤组织发痘良好时处死，然后采皮。

2. 如权利要求 1 的兔皮，其中所说的牛痘病毒株是 Lister 株。

3. 如权利要求 1 的兔皮，其中所说的牛痘病毒株是 Ikeda 株。

4. 如权利要求 1 的兔皮，其中所说的牛痘病毒株是 Dairen 株。

5. 如权利要求 1 的兔皮，其中所说的牛痘病毒株是 EM-63 株。

6. 如权利要求 1 的兔皮，其中所说的接种是皮下接种，按每只 1.5 - 3 千克的家兔注射 100 到 250 处，每处注射每毫升含 10^6 - 10^9 个病毒的溶液 0.1 - 0.4 毫升进行。

7. 如权利要求 1 的兔皮，其中所说的家兔是日本大耳白兔。

8. 如权利要求 1 的兔皮，其中所说的家兔是新西兰白兔。

9. 如权利要求 1 的兔皮，其中所说的家兔是中国本兔。

10. 如权利要求 1 的兔皮，其中所说的家兔是青紫兰兔。

11. 如权利要求 1 的兔皮，其中所说的皮肤组织发痘良好是指皮肤组织明显出痘，颜色由红润转为紫红，皮肤增厚，皮下和臀部水肿。

12. 如权利要求 1 - 11 之任一的兔皮，其具有大于或等于 0.5 iu/g 的 SART 活性。

13. 如权利要求 1 - 11 之任一的兔皮，其具有血管舒缓素生成抑制活性。

14. 权利要求 1 - 13 之任一的兔皮的用途，其特征在于将所说的兔皮用于制备药品。

15. 权利要求 1 - 13 之任一的兔皮的用途，其特征在于将所说的兔皮用于制备保健品。

说明书

含生物活性物质的兔皮和其用途

(一) 技术领域

本发明涉及一种含生物活性物质的兔皮和其用途。

(二) 背景技术

曾经有人报道，从感染了痘病毒的家兔皮肤获得的提取物对过敏性疾病有治疗效果，并且具有镇痛作用。然而，目前还没有一种制备含有活性强收率高之活性物质的兔皮的方法。

(三) 发明内容

【要解决的问题】

本发明的目的是提供一种含有活性强收率高之活性物质，既可以用于制备药品，又可以用于制备保健品的兔皮。

【技术方案】

本发明发明人经过多年的潜心研究，终于达到了上述目的。

本发明的兔皮是由以下方法制备的：用牛痘病毒株接种家兔(*Oryctolagus cuniculus*)，将接种过的家兔进行饲养，待其皮肤组织发痘良好时处死，然后采皮。

牛痘病毒是本世纪广泛使用的一类病毒，各种牛痘病毒(vaccinia virus)株都可以用来制备本发明的兔皮，所说的病毒株例如牛痘病毒株 Lister 株、Ikeda 株、Dairen 株、EM-63 株、天坛(Temple of Heaven)株、LMC 株、Tashkent 株、Williamsport 株、纽约市健康委员会(New York City Board of Health)株。其中优选的是 Lister 株、Ikeda 株、Dairen 株、EM-63 株，最优选的是 Lister 株。这些病毒株都可以从市场上购得。用于接种的病毒可以是直接从市场上购得的，也可以是用家兔继代培养获得的。

以上所说的接种以皮下接种为宜，按每只 1.5 - 3 千克的家兔注射 100 到 250 处，每处注射每毫升含 10^6 - 10^9 个病毒的溶液 0.1 - 0.4 毫升进行。

用于制备本发明的兔皮的家兔可以是各种家兔，所说的家兔例如日本大

耳白兔、新西兰白兔、中国本兔、青紫兰兔、银灰色兔(Silver Fox)、维也纳兔、长毛兔、喜马拉雅白化兔(Himalayan albino rabbit)、力克施兔(Pex)、比利时兔(Belgian Hare)、公羊兔(Lop)、加利福尼亚兔、花巨兔(Chekered Giant)、丹麦白兔、西德长毛兔。优选的是日本大耳白兔、新西兰白兔、中国本兔、青紫兰兔，最优选的是日本大耳白兔。

皮肤组织发痘良好是指皮肤组织明显出痘，颜色由红润转为紫红，皮肤增厚，皮下和臀部水肿。处死兔的方法以颈椎脱臼法为宜。

【有益效果】

本发明的兔皮具有大于或等于 0.5 iu/g 的 SART 活性，并具有血管舒缓素生成抑制活性。

经溶剂抽提、酸处理、碱处理、吸附和洗脱以及浓缩等步骤可以从所说的兔皮制备含有多多种氨基酸和核酸的活性制剂，其中的氨基酸包括谷氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯基丙氨酸、赖氨酸、组氨酸、天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸；其中的核酸包括尿刊酸、尿嘧啶、次黄嘌呤、黄嘌呤、胸腺嘧啶。

将上述活性制剂与药用辅料组合可制成药品，这种药品可以是各种适于临床使用的剂型，包括针剂、片剂等，优选的是针剂。在针剂中，辅料可以是注射用蒸馏水，生理盐水、注射用植物油、葡萄糖注射液、丙二醇、聚乙二醇等，还可以是各种稳定剂、乳化剂等；在片剂、胶囊剂和颗粒剂中，辅料可以是淀粉、乳糖、甘露醇等赋形剂，结晶纤维素、阿拉伯胶、玉米淀粉、明胶、聚乙烯、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮等结合剂，羧甲基纤维素、聚乙二醇、马铃薯淀粉定崩解剂，滑石粉、硬脂酸镁等润滑剂，甘油等润湿剂等。在软膏剂中，辅料可以是脂肪油、石蜡、羊毛脂、凡士林、乙二醇、甘油等基质等。

药理和临床试验表明，从本发明的兔皮制备的药品对多种疾病具有镇痛作用。这些疾病包括各种神经痛、腰痛、胆绞痛、心绞痛、动脉栓塞性疼痛、创伤烧伤烫伤等的剧烈疼痛、手术期间和手术后的疼痛、消化性溃疡病疼痛、痛经、分娩后的宫缩痛、头痛、各种肿瘤引起的疼痛等。

研究显示，从本发明的兔皮制备的药品可以有效地促进巨噬细胞活化作用，明显抑制作为 I 型变态反应模型的小鼠的 IgE 抗体而引起的 48 小时同源 PCA 反应，并且可以抑制作为 II 型变态反应的模型抗补体活性，其作用与用量成线性关系。由此可知，从本发明的兔皮制备的药品具有抑制与免疫机能有关的炎症的作用，可以改善免疫功能。

此外，从本发明的兔皮制备的药品还具有抗过敏、抗溃疡、镇静等作用。

将从本发明的兔皮制备的药品连续 28 天向大鼠腹腔给药，在任意一组中都没有出现死亡，尿检、眼科检查、血液化学检查、病理组织学检查和解剖均说明不存在由于本发明的镇痛药的给药引起的变化。这些说明本发明的镇痛药毒性很小。

将上述活性制剂与食品添加剂和营养物质组合可以制成保健品。所说的食品添加剂和营养物质包括各种维生素和各种调味剂等。从本发明的兔皮制备的保健品具有增强免疫功能、缓和疼痛、抗过敏和抗神经紧张等功能。

SART 活性的试验方法是本领域公知的（参见喜多富太郎等，日药理志 (Folia pharmacol. japon.) 71:211-220 (1975)）。

本文所称的血管舒缓素生成抑制活性是由以下方法测定的：

将兔皮切成 1 平方厘米左右的小块，向其中加入 4 倍量（重量）的 3% 苯酚水溶液。将其置于 4℃ 环境下 72 小时，液体成为乳液后离心，取出上清液，过滤，得到褐色溶液 A；用 1M 盐酸将该溶液的 pH 值调至 5.0，于水浴中煮沸 40 分钟，立即降温至 28℃，接着离心，然后过滤上清液，得到溶液 B；用 1M 氢氧化钠将滤液的 pH 值调至 9.2，于水浴中煮沸 40 分钟，立即降温至 28℃，然后过滤，得到溶液 C；用 1M 盐酸将滤液的 pH 值调至 4.5，向其中加入活性炭，于 30℃ 和不断搅拌下浸泡 4 小时，停止搅拌，使其静置 30 分钟，抽掉上层清液，在氮气环境下过滤，然后以注射水浸泡及洗净活性炭，过滤，弃去滤液收集和贮存活性炭，把载有活性炭的器皿加进注射水中，用 1M 氢氧化钠将 pH 调至 11.0，连续搅拌 4 小时。在氮气环境下用 0.45μm 滤膜过滤，再以注射水洗净活性炭，得到溶液 D；用 1M 盐酸将 pH 调至 6.0，密封容器，加热至 121℃，保持 20 分钟，然后冷却至 40℃ 以下，得到溶液 E；将溶液 E

抽入减压蒸馏器，使减压蒸馏器内的空气更换成氮气，在 60℃ 下减压蒸馏，过滤，得到含生物活性物质的溶液，测定其 SART 活性。经蒸发浓缩和加蒸馏水稀释将上述溶液的 SART 活性调节至 1.2 iu/ml，取该溶液 10ml，在最终电导度为 10 μ s/cm 的条件下脱盐，减压干燥后，加入 0.25M 氯化钠溶液 1.5ml，得到试验溶液。将 0.25M 氯化钠溶液 0.2ml 作为对照溶液，与 0.2ml 试验溶液平行进行以下处理。将 0.5ml 稀释的人血浆分别注入试验溶液和对照溶液中，在冰点下放置 5 分钟，加入白陶土悬浊液 0.25ml，再在冰点下放置 20 分钟。经隔膜过滤，取 0.1ml 滤液与 0.1M 三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液 0.2ml 及基质溶液 0.1ml 混合，在 30℃ 的条件下反应 20 分钟，在反应溶液中加入 1% 的柠檬酸 0.8ml 使反应停止，测定 405nm 下的吸光度，将对照溶液的吸光度设定为 0.4，测定试验溶液的吸光度值 A，如果 A 小于 0.4，则试验溶液所对应的兔皮具有血管舒缓素生成抑制活性。

(四) 具体实施方式

以下结合实施例进一步说明本发明：

实施例 1 制备兔皮

将牛痘病毒 Lister 株的干燥痘疮疫苗用 PBS(-) 溶液（氯化钠 80 克，氯化钾 2 克，磷酸二氢钠 11.5 克，二水磷酸二氢钾 2 克，加注射水至 10 升）溶解，摇匀。用针管抽取 0.4 毫升向已知日本大耳白兔辜丸的中央内层注射，第 4 天用力拉断颈椎，剪开阴囊，去除辜丸结缔组织。将已剪采的辜丸放入装有冰块的专用容器内，再放入 -80℃ 的超低温冰箱中保存。将辜丸组织拿出冰箱软化 1 小时，4℃ 下磨碎，以 1:1 与 EAGLE' S 培养基（Eagle' s 粉末 9.4 克，10% 碳酸氢钠 12.5-22.0 毫升，谷氨酰胺 10 毫升，注射水 1 升）混合，分装后，放入 -80℃ 的超低温冰箱中冻结 1 小时，再取出在 37℃ 的水浴箱中解冻。然后，进行低温离心（4℃，3500rpm，20 分钟）。分装为 10 毫升一只。将此抗原继代培养物放入 -80℃ 的超低温冰箱中保存。

从 -80℃ 的超低温冰箱中取出抗原继代培养物病毒溶液，放入 30℃ 的温箱中使其慢慢溶化。用一支 10 毫升的针管抽取 5 毫升，注入 500 毫升的 PBS(-) 溶液中，摇匀，得到每毫升含 10^9 个病毒的注射溶液。将一只健康的成熟大耳

白兔（3 千克）背上的毛剪去，用 75%酒精棉球擦拭已剪去毛的部位。用以上制得的注射溶液皮内注射该兔，共注射 200 处，每次注射 0.4 毫升，注意不漏水、不空打，不注穿皮肤。将注射过的兔饲养 4 天。发痘良好，颜色由红润转为紫红，皮肤增厚，皮下有水肿，臀部水肿明显。用颈椎脱臼法处死兔，15 分钟内完成采皮。用塑料袋包装兔皮，立即存放在-18℃的冰柜中备用。获得的兔皮重量为 349 克，其 SART 活性为 0.85 iu/g。血管舒缓素生成抑制试验中吸光度值为 0.07，表面其具有血管舒缓素生成抑制活性。

实施例 2 制备兔皮

采用牛痘病毒 Ikeda 株和新西兰白兔，按照实施例 1 的方法制备抗原继代培养物。

从-80℃的超低温冰箱中取出抗原继代培养物病毒溶液，放入 30℃的温箱中使其慢慢溶化。用一支 10 毫升的针管抽取 5 毫升，注入 500 毫升的 PBS(-) 溶液中，摇匀，得到每毫升含 10^9 个病毒注射溶液。将一只健康的成熟新西兰白兔（2.75 千克）背上的毛剪去，用 75%酒精棉球擦拭已剪去毛的部位。用以上制得的注射溶液皮内注射该兔，共注射 250 处，每次注射 0.3 毫升，注意不漏水、不空打，不注穿皮肤。将注射过的兔饲养 3 天。发痘良好，颜色由红润转为紫红，皮肤增厚，皮下有水肿，臀部水肿明显。用颈椎脱臼法处死兔，15 分钟内完成采皮。用塑料袋包装兔皮，立即存放在-18℃的冰柜中备用。获得的兔皮重量为 302 克，其 SART 活性为 0.60 iu/g。血管舒缓素生成抑制试验中吸光度值为 0.1，表面其具有血管舒缓素生成抑制活性。

实施例 3 制备兔皮

采用牛痘病毒 Dairen 株和中国本兔，按照实施例 1 的方法制备抗原继代培养物。

从-80℃的超低温冰箱中取出抗原继代培养物病毒溶液，放入 30℃的温箱中使其慢慢溶化。用一支 10 毫升的针管抽取 5 毫升，注入 500 毫升的 PBS(-) 溶液中，摇匀，得到每毫升含 10^6 个病毒的注射溶液。将一只健康的中国本兔（1.5 千克）背上的毛剪去，用 75%酒精棉球擦拭已剪去毛的部位。用以上制得的注射溶液皮内注射该兔，共注射 250 处，每次注射 0.1 毫升，注意不漏水、

不空打，不注穿皮肤。将注射过的兔饲养 3 天。发痘良好，颜色由红润转为紫红，皮肤增厚，皮下有水肿，臀部水肿明显。用颈椎脱臼法处死兔，15 分钟内完成采皮。用塑料袋包装兔皮，立即存放在 -18°C 的冰柜中备用。获得的兔皮重量为 176 克，其 SART 活性为 0.50 iu/g。血管舒缓素生成抑制试验中吸光度值为 0.15，表面其具有血管舒缓素生成抑制活性。

实施例 4 制备兔皮

采用牛痘病毒 EM-63 株和青紫兰兔，按照实施例 1 的方法制备抗原继代培养物。

从 -80°C 的超低温冰箱中取出抗原继代培养物病毒溶液，放入 30°C 的温箱中使其慢慢溶化。用一支 10 毫升的针管抽取 5 毫升，注入 500 毫升的 PBS(-) 溶液中，摇匀，得到每毫升含 10^7 个病毒的注射溶液。将一只健康青紫兰兔（2 千克）背上的毛剪去，用 75% 酒精棉球擦拭已剪去毛的部位。用以上制得的注射溶液皮内注射该兔，共注射 100 处，每次注射 0.2 毫升，注意不漏水、不空打，不注穿皮肤。将注射过的兔饲养 3 天。发痘良好，颜色由红润转为紫红，皮肤增厚，皮下有水肿，臀部水肿明显。用颈椎脱臼法处死兔，15 分钟内完成采皮。用塑料袋包装兔皮，立即存放在 -18°C 的冰柜中备用。获得的兔皮重量为 230 克，其 SART 活性为 0.55 iu/g。血管舒缓素生成抑制试验中吸光度值为 0.12，表面其具有血管舒缓素生成抑制活性。

实施例 5 制备兔皮

采用牛痘病毒 Lister 株和新西兰白兔，按照实施例 1 的方法制备抗原继代培养物。

从 -80°C 的超低温冰箱中取出抗原继代培养物病毒溶液，放入 30°C 的温箱中使其慢慢溶化。用一支 10 毫升的针管抽取 5 毫升，注入 500 毫升的 PBS(-) 溶液中，摇匀，得到每毫升含 10^9 个病毒注射溶液。将一只健康的成熟新西兰白兔（2.75 千克）背上的毛剪去，用 75% 酒精棉球擦拭已剪去毛的部位。用以上制得的注射溶液皮内注射该兔，共注射 200 处，每次注射 0.3 毫升，注意不漏水、不空打，不注穿皮肤。将注射过的兔饲养 3 天。发痘良好，颜色由红润转为紫红，皮肤增厚，皮下有水肿，臀部水肿明显。用颈椎脱臼法处死

兔, 15 分钟内完成采皮。用塑料袋包装兔皮, 立即存放在 -18°C 的冰柜中备用。获得的兔皮重量为 310 克, 其 SART 活性为 0.79 iu/g 。血管舒缓素生成抑制试验中吸光度值为 0.09, 表面其具有血管舒缓素生成抑制活性。

实施例 6 制备兔皮

采用牛痘病毒 Lister 株和中国本兔, 按照实施例 1 的方法制备抗原继代培养物。

从 -80°C 的超低温冰箱中取出抗原继代培养物病毒溶液, 放入 30°C 的温箱中使其慢慢溶化。用一支 10 毫升的针管抽取 5 毫升, 注入 500 毫升的 PBS(-) 溶液中, 摇匀, 得到每毫升含 10^6 个病毒的注射溶液。将一只健康的中国本兔 (1.5 千克) 背上的毛剪去, 用 75% 酒精棉球擦拭已剪去毛的部位。用以上制得的注射溶液皮内注射该兔, 共注射 250 处, 每次注射 0.1 毫升, 注意不漏水、不空打, 不注穿皮肤。将注射过的兔饲养 3 天。发痘良好, 颜色由红润转为紫红, 皮肤增厚, 皮下有水肿, 臀部水肿明显。用颈椎脱臼法处死兔, 15 分钟内完成采皮。用塑料袋包装兔皮, 立即存放在 -18°C 的冰柜中备用。获得的兔皮重量为 185 克, 其 SART 活性为 0.71 iu/g 。血管舒缓素生成抑制试验中吸光度值为 0.11, 表面其具有血管舒缓素生成抑制活性。

实施例 7 制备兔皮

采用牛痘病毒 Lister 株和青紫兰兔, 按照实施例 1 的方法制备抗原继代培养物。

从 -80°C 的超低温冰箱中取出抗原继代培养物病毒溶液, 放入 30°C 的温箱中使其慢慢溶化。用一支 10 毫升的针管抽取 5 毫升, 注入 500 毫升的 PBS(-) 溶液中, 摇匀, 得到每毫升含 10^7 个病毒的注射溶液。将一只健康青紫兰兔 (2 千克) 背上的毛剪去, 用 75% 酒精棉球擦拭已剪去毛的部位。用以上制得的注射溶液皮内注射该兔, 共注射 100 处, 每次注射 0.2 毫升, 注意不漏水、不空打, 不注穿皮肤。将注射过的兔饲养 3 天。发痘良好, 颜色由红润转为紫红, 皮肤增厚, 皮下有水肿, 臀部水肿明显。用颈椎脱臼法处死兔, 15 分钟内完成采皮。用塑料袋包装兔皮, 立即存放在 -18°C 的冰柜中备用。获得的兔皮重量为 235 克, 其 SART 活性为 0.74 iu/g 。血管舒缓素生成抑制试验中吸

光度值为 0.13，表面其具有血管舒缓素生成抑制活性。

实施例 8 制备兔皮

采用牛痘病毒 Ikeda 株和日本大耳白兔，按照实施例 1 的方法制备抗原继代培养物。

从-80℃的超低温冰箱中取出抗原继代培养物病毒溶液，放入 30℃的温箱中使其慢慢溶化。用一支 10 毫升的针管抽取 5 毫升，注入 500 毫升的 PBS(-) 溶液中，摇匀，得到每毫升含 10^9 个病毒注射溶液。将一只健康的成熟日本大耳白兔（3 千克）背上的毛剪去，用 75%酒精棉球擦拭已剪去毛的部位。用以上制得的注射溶液皮内注射该兔，共注射 200 处，每次注射 0.3 毫升，注意不漏水、不空打，不注穿皮肤。将注射过的兔饲养 3 天。发痘良好，颜色由红润转为紫红，皮肤增厚，皮下有水肿，臀部水肿明显。用颈椎脱臼法处死兔，15 分钟内完成采皮。用塑料袋包装兔皮，立即存放在-18℃的冰柜中备用。获得的兔皮重量为 335 克，其 SART 活性为 0.70 iu/g。血管舒缓素生成抑制试验中吸光度值为 0.12，表面其具有血管舒缓素生成抑制活性。

实施例 9 制备兔皮

采用牛痘病毒 Dairen 株和日本大耳白兔，按照实施例 1 的方法制备抗原继代培养物。

从-80℃的超低温冰箱中取出抗原继代培养物病毒溶液，放入 30℃的温箱中使其慢慢溶化。用一支 10 毫升的针管抽取 5 毫升，注入 500 毫升的 PBS(-) 溶液中，摇匀，得到每毫升含 10^6 个病毒的注射溶液。将一只健康的日本大耳白兔（3 千克）背上的毛剪去，用 75%酒精棉球擦拭已剪去毛的部位。用以上制得的注射溶液皮内注射该兔，共注射 200 处，每次注射 0.1 毫升，注意不漏水、不空打，不注穿皮肤。将注射过的兔饲养 3 天。发痘良好，颜色由红润转为紫红，皮肤增厚，皮下有水肿，臀部水肿明显。用颈椎脱臼法处死兔，15 分钟内完成采皮。用塑料袋包装兔皮，立即存放在-18℃的冰柜中备用。获得的兔皮重量为 336 克，其 SART 活性为 0.61 iu/g。血管舒缓素生成抑制试验中吸光度值为 0.14，表面其具有血管舒缓素生成抑制活性。

实施例 10 制备兔皮

采用牛痘病毒 EM-63 株和日本大耳白兔，按照实施例 1 的方法制备抗原继代培养物。

从 -80℃ 的超低温冰箱中取出抗原继代培养物病毒溶液，放入 30℃ 的温箱中使其慢慢溶化。用一支 10 毫升的针管抽取 5 毫升，注入 500 毫升的 PBS(-) 溶液中，摇匀，得到每毫升含 10^7 个病毒的注射溶液。将一只健康日本大耳白兔（3 千克）背上的毛剪去，用 75% 酒精棉球擦拭已剪去毛的部位。用以上制得的注射溶液皮内注射该兔，共注射 200 处，每次注射 0.2 毫升，注意不漏水、不空打，不注穿皮肤。将注射过的兔饲养 3 天。发痘良好，颜色由红润转为紫红，皮肤增厚，皮下有水肿，臀部水肿明显。用颈椎脱臼法处死兔，15 分钟内完成采皮。用塑料袋包装兔皮，立即存放在 -18℃ 的冰柜中备用。获得的兔皮重量为 335 克，其 SART 活性为 0.66 iu/g。血管舒缓素生成抑制试验中吸光度值为 0.12，表面其具有血管舒缓素生成抑制活性。

实施例 11 提取活性物质

分别将实施例 1 - 10 的兔皮（各 200 克）切成 1 平方厘米左右的小块，向其中加入 4 倍量（重量）的 3% 苯酚水溶液。将其置于 4℃ 环境下 72 小时，液体成为乳液后离心，取出上清液，过滤，得到褐色溶液 A；用 1M 盐酸将该溶液的 pH 值调至 5.0，于水浴中煮沸 40 分钟，立即降温至 28℃，接着离心，然后过滤上清液，得到溶液 B；用 1M 氢氧化钠将滤液的 pH 值调至 9.2，于水浴中煮沸 40 分钟，立即降温至 28℃，然后过滤，得到溶液 C；用 1M 盐酸将滤液的 pH 值调至 4.5，向其中加入 50 克活性炭，于 30℃ 和不断搅拌下浸泡 4 小时，停止搅拌，使其静置 30 分钟，抽掉上层清液，在氮气环境下过滤，然后以注射水浸泡及洗净活性炭，过滤，弃去滤液收集和贮存活性炭，把载有活性炭的器皿加进 400 毫升注射水中，用 1M 氢氧化钠将 pH 调至 11.0，连续搅拌 4 小时。在氮气环境下用 0.45 μ m 滤膜过滤，再以 40 毫升注射水洗净活性炭，得到溶液 D；用 1M 盐酸将 pH 调至 6.0，密封容器，加热至 121℃，保持 20 分钟，然后冷却至 40℃ 以下，得到溶液 E；将溶液 E 抽入减压蒸馏器，使减压蒸馏器内的空气更换成氮气，在 60℃ 下减压蒸馏至体积为 5 毫升，过滤，得到 5 毫升制剂。测定以下氨基酸和核酸的含量（ μ g/ml）：

物质	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5	实施例 6	实施例 7	实施例 8	实施例 9	实施例 10
谷氨酸	1.64	0.85	0.70	0.80	1.54	1.20	1.40	1.12	0.98	1.03
甘氨酸	0.92	0.51	0.33	0.49	0.86	0.73	0.80	0.70	0.55	0.61
丙氨酸	0.96	0.64	0.59	0.60	0.92	0.77	0.83	0.76	0.66	0.70
缬氨酸	0.66	0.34	0.23	0.29	0.62	0.57	0.61	0.51	0.39	0.45
异亮氨酸	0.42	0.17	0.10	0.14	0.40	0.32	0.38	0.30	0.26	0.28
亮氨酸	0.67	0.22	0.11	0.16	0.66	0.53	0.60	0.46	0.35	0.41
酪氨酸	0.83	0.30	0.25	0.20	0.77	0.61	0.69	0.52	0.36	0.44
苯基丙氨酸	0.55	0.26	0.24	0.25	0.53	0.42	0.48	0.34	0.30	0.33
赖氨酸	0.47	0.11	0.09	0.10	0.45	0.39	0.34	0.34	0.19	0.26
组氨酸	0.64	0.24	0.18	0.21	0.57	0.43	0.53	0.41	0.31	0.35
天冬氨酸	0.68	0.44	0.39	0.40	0.61	0.57	0.58	0.49	0.45	0.46
苏氨酸	0.51	0.24	0.11	0.16	0.50	0.42	0.46	0.38	0.30	0.34
丝氨酸	1.01	0.69	0.66	0.67	0.98	0.79	0.88	0.75	0.70	0.71
尿刊酸	25.00	13.24	12.52	13.00	24.75	22.39	24.00	20.01	16.55	17.64
尿嘧啶	16.12	6.66	5.51	6.16	14.31	10.46	13.19	10.00	7.12	8.54
次黄嘌呤	1.71	0.85	0.80	0.81	1.65	1.11	1.34	1.01	0.89	0.99
黄嘌呤	12.44	6.13	5.21	5.79	12.00	9.98	11.67	9.62	6.39	8.13
胸腺嘧啶	3.38	1.99	1.15	1.54	3.30	2.77	3.19	2.49	2.04	2.44

实施例 12 制备药品

采用以下配方，按照常规方法制备用于镇痛的针剂：

从实施例 2 的兔皮获得的制剂 5 毫升

氯化钠 2.6 克

注射用蒸馏水 300 毫升。

实施例 13 制备片剂

采用以下配方，按照常规方法制备用于镇痛的片剂：

实施例 1 所获得的活性制剂 50 毫升

乳糖 125 毫克

结晶纤维素 20 克

硬脂酸镁 5 毫克。

实施例 14 制备保健品

采用以下配方，按照常规制备方法制备营养保健品：

从实施例 1 的兔皮获得的制剂 50 毫升

蔗糖 125 毫克

柠檬酸 20 毫克

维生素 C 5 毫克

水 1000 毫升